

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Josipa Jantoš,apsolvent  
Preddiplomski studij: Bilinogojstvo

**AFLATOKSINI KAO UZROČNICI KVARENJA POLJOPRIVREDNIH  
PROIZVODA**

**Završni rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, predsjednik

Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor

Doc.dr.sc. Sanda Rašić, član

**Osijek, 2016.**

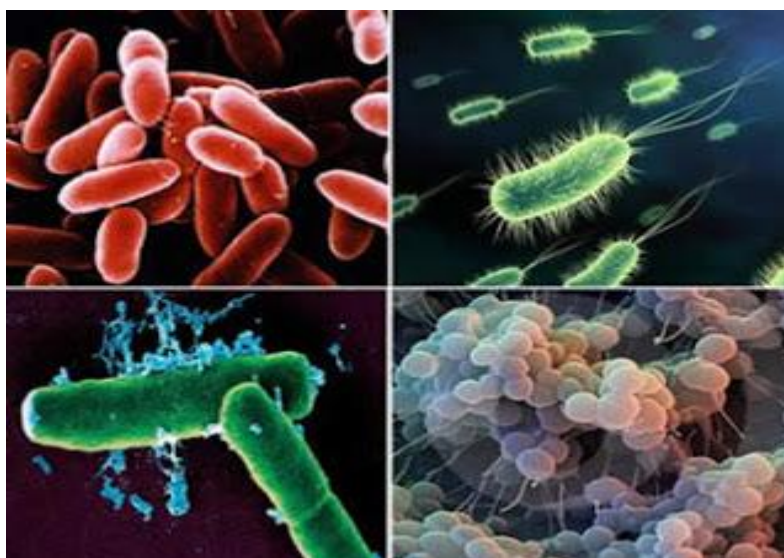
## SADRŽAJ

1. UVOD .....	3
2. MORFOLOGIJA GLJIVA.....	6
2.1 SMJEŠTAJ MICELIJA.....	6
2.2 RAZMNOŽAVANJE GLJIVA .....	9
3. PODODJEL <i>ASCOMYCOTA</i> .....	9
3.1 RAZMNOŽAVANJE .....	9
3.2 POSTANAK ASKUSA .....	11
4. ROD <i>ASPERGILLUS</i> .....	11
5. MORFOLOGIJA PLIJESNI .....	12
5. 1 TOKSINI U PLIJESNI .....	12
6. OTKRIĆE MIKOTOKSINA .....	14
6.1 MIKOTOKSINI .....	15
7. AFLATOKSINI .....	18
8. <i>ASPERGILLUS FLAVUS</i> .....	20
8.1 AFLATOKSIN B1 (AFB1) .....	21
8.2 AFLATOKSIN M1 (AFM1).....	22
9. ZAKLJUČAK .....	24
10. PREGLED LITERATURE .....	25
11. SAŽETAK.....	26
12. SUMMARY .....	26
13. POPIS DODATAKA .....	27
13.1 POPIS SLIKA .....	27
13.2 POPIS TABLICA.....	29
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	

## 1.UVOD

Među mikroorganizme se ubrajaju bakterije, protozoe, gljive, alge i virusi. Dio njih karakterizira jednostanična građa, dok su drugi građeni od nekoliko stanica (višestanični organizmi), dok su neki bezstanični organizmi. Svi ti organizmi su vrlo sitni, toliko da se golim okom ne mogu vidjeti. Vidljivi su samo pomoću mikroskopa, a neki poput virusa samo pomoću elektronskog mikroskopa.

Gljive koje se ubrajaju u mikroorganizme jednostanični su ili višestanični organizmi. Pripadaju u eukariotske mikroorganizme.

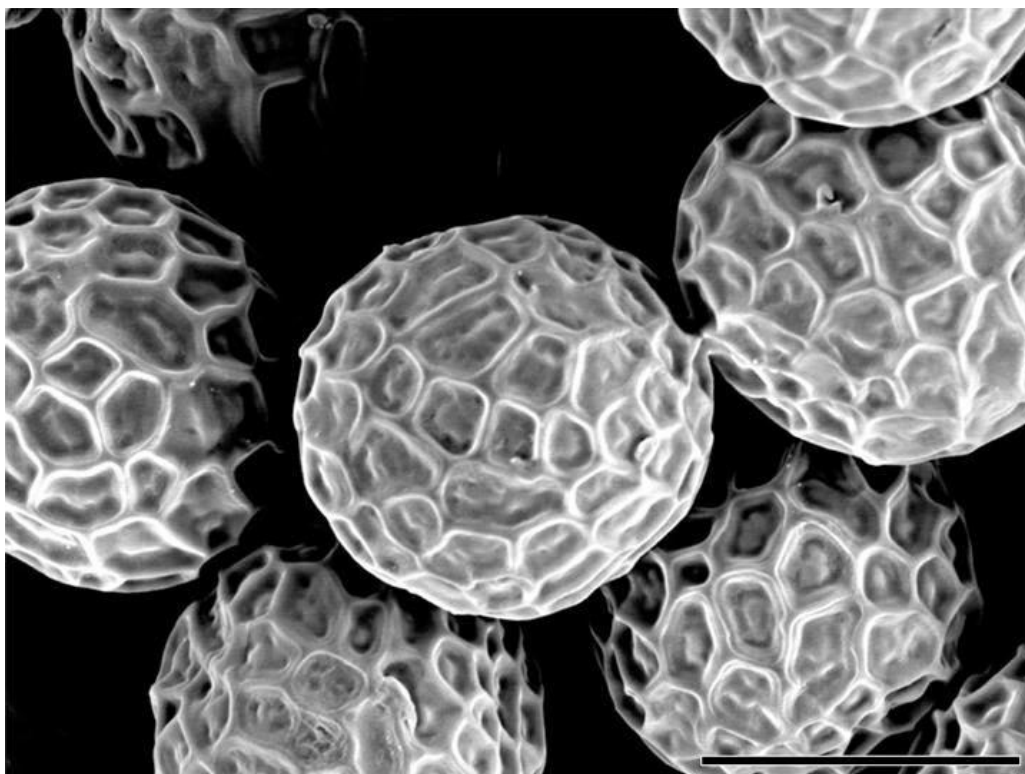


Slika 1. Mikroorganizmi pod mikroskopom

(<http://1.bp.blogspot.com/p7KL5VLNYMY/TqXACBWPwBI/AAAAAAAAAajc/GjhT5lixXDU/s320/moneri.jpg>)

Većina biljnih bolesti je uzrokovana gljivama. Bolesti uzrokovane gljivama se zovu mikoze. Ne postoji vrsta više biljke na kojoj se ne nastanjuje barem po jedna gljivična vrsta, bilo saprofitna ili parazitna. Osobito mnogo gljiva naseljava kultivirane biljne vrste zbog toga što se velik broj jedinki iste vrste uzgaja na površinama jedna uz drugu, a neke čak i u monokulturi. Fitoparazitne gljive izazivaju promjene na biljkama što ima za

posljedicu smanjenje količine i kakvoće prinosa. Upravo zato su mnoge mikoze kultiviranih biljaka detaljno proučene.



Slika 2. Mikroskopski prikaz mikoze

(<http://www.fitmedic.rs/images/mikoze.jpg>)



Slika 3. *Pseudopeziza medicaginis*

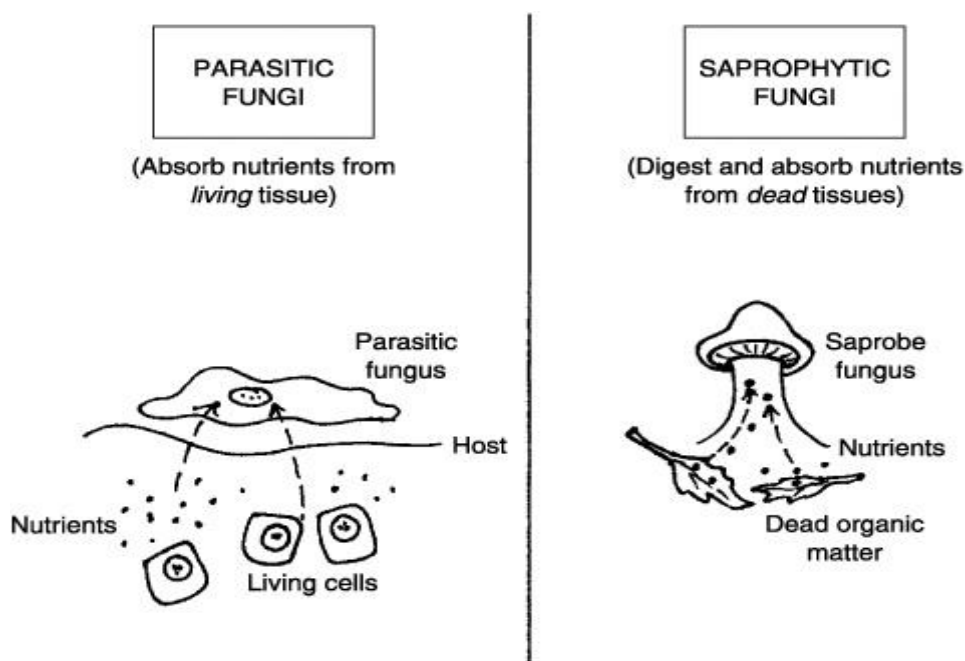
(<http://www7.inra.fr/hyp3/images/6034581.jpg>)

Gljive su heterotrofni organizmi koji se hrane organskom tvari biljnog ili životinjskog porijekla. Razgrađujući mrtvu organsku tvar, svojom aktivnošću vraćaju tlu mineralne tvari, a zraku CO<sub>2</sub>. Njihova je osnovna zadaća, da uz bakterije, u krugu kretanja tvari razgrađuju organsku tvar.

Najveći broj gljivičnih vrsta u prvom redu razgrađuju mrtvu organsku tvar. To su saprofitske gljive. Razgrađujući mrtvu organsku tvar, saprofitne gljive oslobađaju energiju.

Saprofiti mogu biti obligatni ili isključivi i fakultativni. Obligatni ili isključivi saprofiti razvijaju se samo na mrtvoj organskoj tvari, a fakultativni saprofiti najveći dio svojeg života provode na mrtvoj organskoj tvari, jedino u iznimnim prilikama prelaze na žive organizme i tada žive parazitskim načinom.

Druga, manja grupa gljiva razgrađuje živu organsku tvar i to uglavnom onu živih biljaka, uzrokujući bolesti biljaka. Fitopatogene gljive u i na zaraženim biljkama odnosno biljnim organima izazivaju različite morfološke i patofiziološke promjene. Te su gljive parazitne ili fitopatogene gljive. Prema tome, glavna razlika između saprofitskih i parazitnih gljiva je u tome što saprofitske gljive razgrađuju mrtvu, a parazitske živu organsku tvar.



Slika 4. Razlika između parazitskih i saprofitskih organizama

(<http://cramster-image.s3.amazonaws.com/definitions/9780071433877-f0126-01.jpg>)

Pretpostavlja se da su se parazitne gljive razvile iz saprofitnih te da su se specijalizirale na razgradnju žive organske tvari. Obje grupe, i saprofitne i parazitne gljive, su heterotrofni organizmi.

Parazitne gljive, koje mogu uzrokovati bolest na velikom broju biljnih vrsta, zovu se polifagne gljive. Neke od njih ne uzrokuju samo bolesti na više vrsta istog biljnog roda nego i na vrsta više rodova iz iste porodice, ili čak na velikom broju rodova iz različitih, botanički udaljenih porodica. U drugim slučajevima parazitna je gljiva ograničena na parazitaciju manjeg broja biljnih vrsta i na samo nekoliko rodova. I na kraju, neke gljive parazitiraju samo jednu ili nekoliko vrsta istog roda biljaka – to su monofagne gljive.

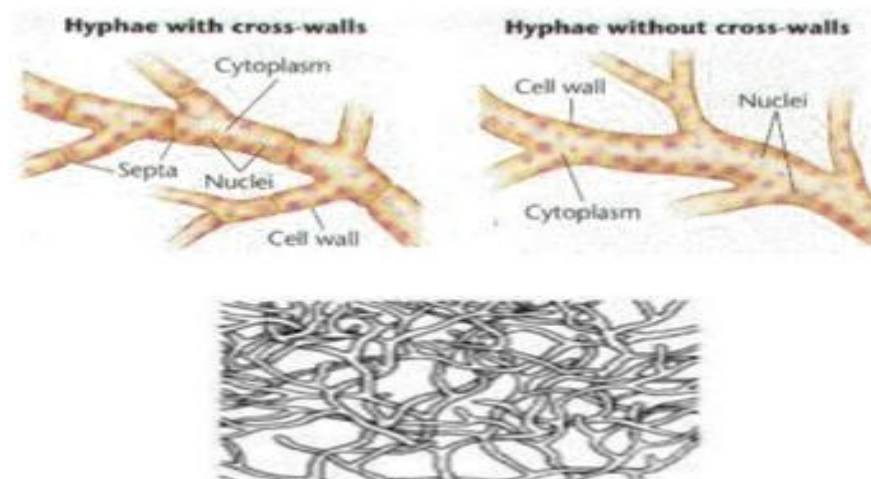
Saprofitne su gljive uglavnom korisne, jer razgrađuju mrtvu organsku tvar, ali neke njihove vrste mogu biti štetne uzrokujući kvarenje mnogih poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda. Osim toga, neke od njih produciraju vrlo otrovne mikotoksine s kojima ćemo se upoznati u daljnjim poglavljima.

## **2. MORFOLOGIJA GLJIVA**

Kod najprimitivnijih gljiva tijelo je građeno od gole protoplazmatične mase i naziva se plazmodij. Kod razvijenijih gljiva tijelo je građeno od tankih, izduženih, cjevastih stanica koje se zovu hife.

Hife rastu vršno, izduživanjem vrha, stvaraju postrane ogranke te se razvija splet hifa koji se naziva micelij i čini vegetativno tijelo gljive. Hife mogu biti jednostanične i višestanične, a debljina im je najčešće od 1-2  $\mu\text{m}$ , iako neke gljive imaju hife debljine i preko 100  $\mu\text{m}$ . Kod višestaničnih hifa u cjevastoj stanici postoje pregrade ili poprečne membrane koje se nazivaju septe. Za takvu hifu kažemo da je septirana.

Kod neseptiranih hifa nalazimo bujan i razgranat micelij, ali se uvijek sastoji od jedne stanice. Hife su najčešće bijele boje, ali mogu biti i drugih boja što ovisi o pigmentima koji su se nataložili u staničnim stijenkama hifa.



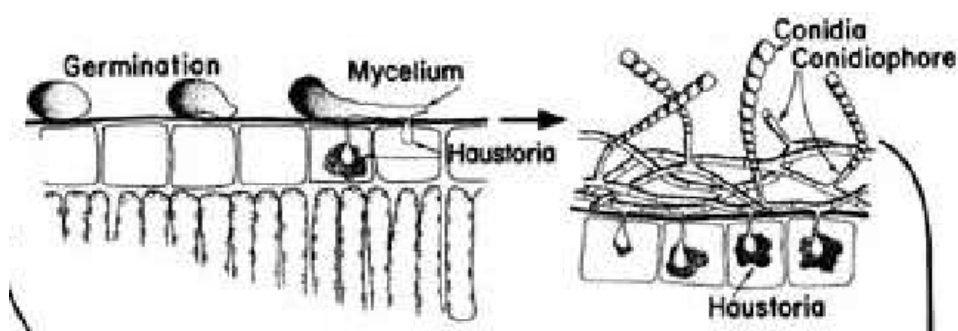
Slika 5. Septirane i ne-septirane hife

([http://web.unair.ac.id/admin/file/f\\_13838\\_hifa.png](http://web.unair.ac.id/admin/file/f_13838_hifa.png))

## 2.1 SMJEŠTAJ MICELIJA

### 1. Epifitni ili ektoparaziti

Vegetativno tijelo gljive s frustifikacijskim organima nalazi se na površini zaraženog biljnog organa. Ishrana se obavlja preko sisaljki (haustorija).



Slika 6. Smještaj micelija i način ishrane kod ektoparazita

(Karolina Vrandečić, (2010.), Fitopatologija 1)



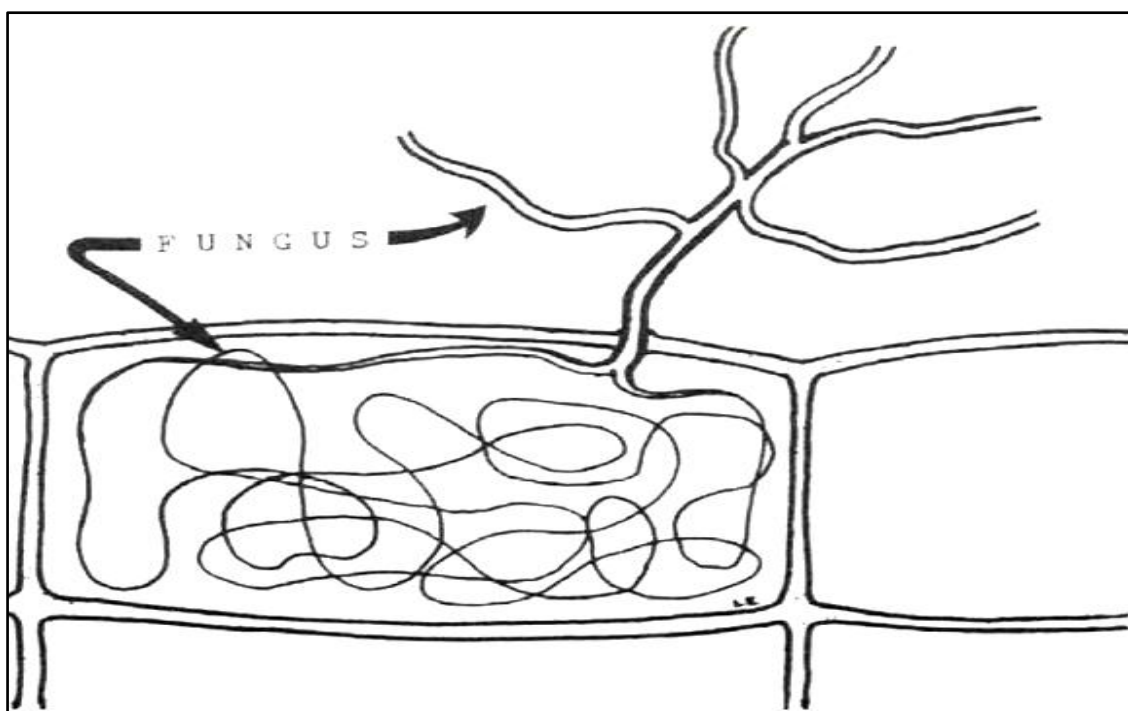
## 2. Endofitni paraziti

### a) Intracelularni paraziti

Kada se micelij razvija prolazeći kroz stanice domaćina.

### b) Intercelularni paraziti

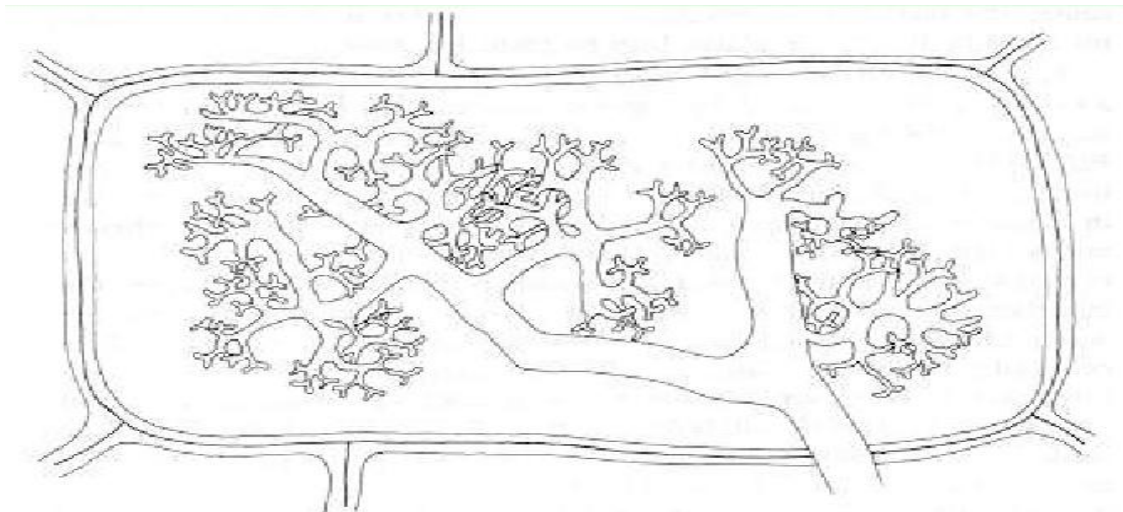
Micelij prolazi između stanica domaćina, a da bi mogao crpiti hranjive tvari, micelij mora imati haustorije koje prodiru u unutrašnjost stanica.



Slika 7. Smještaj i razvoj micelija kod intracelularnih parazita

(Karolina Vrandečić, (2010.), Fitopatologija 1)





Slika 8. Smještaj i razvoj micelija kod intercelularnih parazita  
(Karolina Vrandečić, (2010.), Fitopatologija 1)

## **2.2 RAZMNOŽAVANJE GLJIVA**

1. Vegetativno (nespolno) - spore nastaju fragmentacijom i transformacijom hifa te omogućuju širenje parazita tijekom vegetacije.
2. Sporama (spolno) - spore se razvijaju nakon spolne oplodnje.

Prema tome, po svom načinu postanka, u osnovi se razlikuju spolne i nespolne spore.

## **3. PODODJEL *ASCOMYCOTA***

Gljive iz pododjela *Ascomycota* imaju dobro razvijen višestanični micelij, a u svakoj stanicama može se nalaziti jedna ili više jezgara.

### **3.1 RAZMNOŽAVANJE**

Kod ovog pododjela, razmnožavanje može biti spolno i nespolno.

Nespolno razmnožavanje vrši se pomoću konidija. Nespolno razmnožavanje služi za širenje parazita tijekom vegetacije.

Za spolno razmnožavanje ove gljive stvaraju spolne stanice: anteridij (muška) i askogon (ženska). Svaka ova stanica je haploidna. Prilikom spajanja anteridija i askogona prvo dolazi do plazmogamije (stapanja plazmi stanica bez spajanja jezgara). Rezultat je plazmogamije jedna stanica s dvije haploidne jezgre (dikarionska stanica), iz koje se razvije tzv. askogeni micelij. Na askogenom miceliju nastaju askusi s askosporama.

### **3.2 POSTANAK ASKUSA**

Opna na stanici askogene micelije počinje se izduživati, a jezgre iz stanice prelaze u mladi askus. Nakon nekog vremena jezgre se spajaju (kariogamija) i tako nastaje jedna diploidna jezgra. Ova se diploidna jezgra odmah dijeli: prva dioba je mejoza (I i II mejotička dioba), čime nastanu 4 haploidne jezgre koje se zatim podijele mitozom (dvije mitotičke diobe) pa na kraju od 1 diploidne jezgre nastane 8 haploidnih jezgara. Oko svake jezgre okupi se dio plazme, formira se opna i nastaje askospora. U jednom askusu obično ima osam askospora. One mogu biti poredane u jedan ili dva reda ili plivaju u plazmi bez reda. Kod različitih se gljiva askospore mogu razlikovati po veličini, boji, obliku, broju stanica i slično. Askospore su endogene spore (nastaju unutar askusa). Da bi se mogle širiti i izvršiti zarazu, moraju se osloboditi iz askusa. Oslobođanje askospora može se obaviti na dva načina:

1. Kada su askospore fiziološki zrele, opna askusa upija vodu iz okolne sredine. Uslijed toga, na pojedinim mjestima dolazi do razgradnje opne koja se pretvara u želatinoznu masu. Tako na askusu nastaju otvori kroz koje istječe sadržaj askusa zajedno s askosporama. Na ovaj način oslobođene askospore šire se vodom ili kukcima.
2. Plazma unutar askusa zove se epiplazma. Ona pored ostalih tvari sadrži glikogen. Kada su askospore zrele, vodu iz vanjske sredine upija epiplazma. Uslijed toga, dolazi do promjena u epiplazmi i do transformacije glikogena u saharozu. Tako se povećava osmotski tlak u askusu. Opna askusa rasteže se do određene mjere, a kada tlak u askusu postane veći nego što opna može izdržati, ona puca, obično u vršnom dijelu. Zbog naglog izjednačavanja tlaka u askusu s atmosferskim tlakom, askospore bivaju izbačene i šire se zrakom.

Askusi s askosporama mogu nastati pojedinačno ili više askusa koji čine himenij. Između pojedinih askusa u himeniju razvijaju se izdužene sterilne stanice - parafize. Smatra se da one pomažu razvoj askusa i askospora. Askusi se mogu razviti izravno na miceliju ili u posebnim plodonosnim tijelima. Plodonosna tijela razvijaju se istovremeno kada i askusi i rezultat su spolne oplodnje. Plodišta mogu nastati pojedinačno ili u grupama, mogu biti smještena u biljnom tkivu ili na njegovoj površini.

#### **4. ROD ASPERGILLUS**

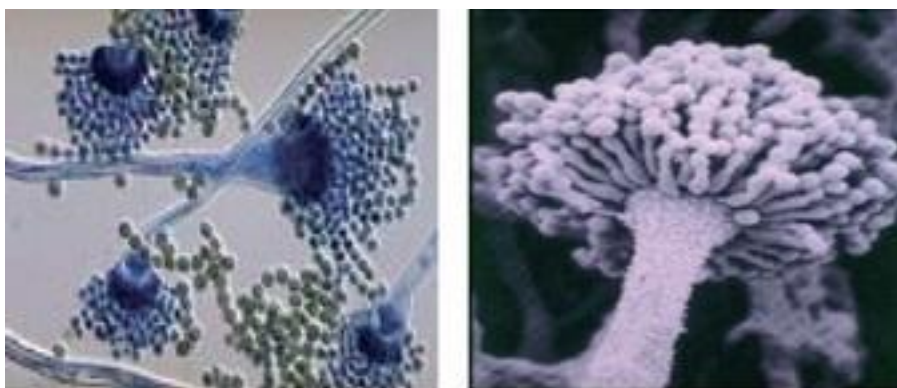
*Aspergillus* je rod koji se sastoji od nekoliko stotina vrsta plijesni koje se nalaze u različitim podnebljima diljem svijeta. *Aspergillus* je ime za aseksualnu sporogenu strukturu koja je zajednička svim vrstama *aspergillus*, ali je čak 1/3 vrste poznata po tome da ima spolni stadij.

*Aspergillus* je član gljiva iz poddjela *Ascomycota*, razred *Eurotiomycetes*, red *Eurotiales*, porodica *Trichocomaceae*. *Aspergillus* vrste su vrlo aerobne i nalaze se u skoro svim okruženjima bogatim kisikom, gdje često rastu kao plijesni na površini supstrata, kao rezultat visokog pritiska kisika. Uobičajeno, gljive rastu na supstratima bogatim karbonatima kao što su monosaharidi (glukoza) i polisaharidi (kao amilaza). *Aspergillus* vrste česti su kontaminanti brašnaste hrane (kao što su kruh i krumpir), i rastu na mnogo biljaka i drveća.

Osim rasta na površinama bogatim ugljikom, mnoge vrste *Aspergillus* ponašaju se kao oligotrofni organizmi, te imaju mogućnost rasta u okruženju niske hranjive vrijednosti, ili u okruženju u kojem kompletno fale ključna hraniva. *A.niger* je pravi primjer ovih organizama; može rasti po vlažnim zidovima, kao glavna komponenta plijesni.

*Aspergillus* je veliki rod plijesni koji obuhvaća više od 100 poznatih i opisanih vrsta, od kojih veći broj dobro raste u laboratorijskom uzgoju. Od golemog broja askosporogenih rodova, dva imaju posebno značenje u mikrobiologiji namirnica. To su kserofilni rod *Eurotium* i *Neosartoria*, vrste koje tvore termorezistentne askospore i uzrokuju kvarenje toplinski obrađenih namirnica. Iako se nekoliko vrsta iz roda *Aspergillus* upotrebljava za

produkciju osobitih namirnica, većina su onečišćivači i sudjeluju u razgradnji i kvarenju namirnica i krme. Taj rod sadržava i nekoliko vrsta koje mogu sintetizirati najsnažnije mikotoksine (aflatoksine).



9. Mikroskopska slika plijesni *Aspergillus flavus*

([http://www.hah.hr/arhiva/index\\_potrosacki.php?id=900](http://www.hah.hr/arhiva/index_potrosacki.php?id=900))

## **5. MORFOLOGIJA PLIJESNI**

Plijesni su mikroskopske gljive koje rastu u obliku hifa. Kolonija plijesni sastoji se od povezanih, umreženih hifa koje tvore micelij. Imaju genetski identične stanice. Micelij plijesni izlučuje hidrolitične enzime, koji razlažu organske tvari u jednostavne šećere. Izlučene tvari pripremaju hranu za gljivu, koju onda hife jednostavno upijaju. Crna, zelena ili žuta boja plijesni potječe od njihovih spora (stanica kojima se razmnožavaju).

### **5. 1 TOKSINI U PLIJESNI**

Plijesni su mikroskopske micelijske gljivice koje su široko rasprostranjene u prirodi. Imaju sposobnost proizvodnje različitih kemijskih spojeva, od jednostavnih kiselina do složenih makromolekula. Neki od produkata njihovoga metabolizma, poput antibiotika, limunske kiseline i dr., čovjek je uspio iskoristiti, ali ne i potpuno spriječiti njihov

negativni učinak, posebice patogenih vrsta u kvarenju hrane i krmivu te njihovu toksičnost povezanu uz izazivanje bolesti u ljudi, biljaka i životinja. Klasificiraju se kao plijesni s polja, plijesni u skladištima i plijesni uznapredovanog kvarenja. Većina plijesni opasnih za zdravlje ljudi podrijetlom je iz skladišta, iako su neki biološki aktivni produkti metabolizma plijesni s prirodnih staništa pokazali toksični učinak na zdravlje ljudi i životinja. Toksikotvorne plijesni mogu rasti i proizvoditi mikotoksine na raznim žitaricama: u polju, prije žetve, nakon žetve, tijekom procesiranja, transporta i uskladištenja.

**Tablica 1.** Pregled žitarica u kojima su dokazani mikotoksini (sjenčani dio)

MIKOTOKSIN	Pšenica	Raž	Ječam	Zob	Kukuruz	Riža	Proso
Aflatoksin							
Citrinin							
Luteoskirin							
Okratoksin							
Trihoteceni							
Zearalenon							
Sterigmatocistin							

Izvor: Šarkanj i sur., (2010) : Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani

**Tablica 2.** Mogući putovi kontaminacije namirnica i krme mikotoksinima

Prehrambeni proizvodi inficirani plijesnima	
a) hrana biljnog podrijetla	Žitarice, uljarice (kikiriki), voće, povrće
b) hrana životinjskoga podrijetla (sekundarne namirnice)	Miješana krma (sekundarne infekcije)
<b>Ostaci u životinjskim tkivima i životinjskim produktima</b>	Mlijeko, mliječni proizvodi, meso
<b>Namirnice koje se dobivaju pomoću plijesni</b>	Sirevi, fermentirani mesni proizvodi, orijentalna fermentirana hrana

Izvor: Šarkanj i sur., (2010) : Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani

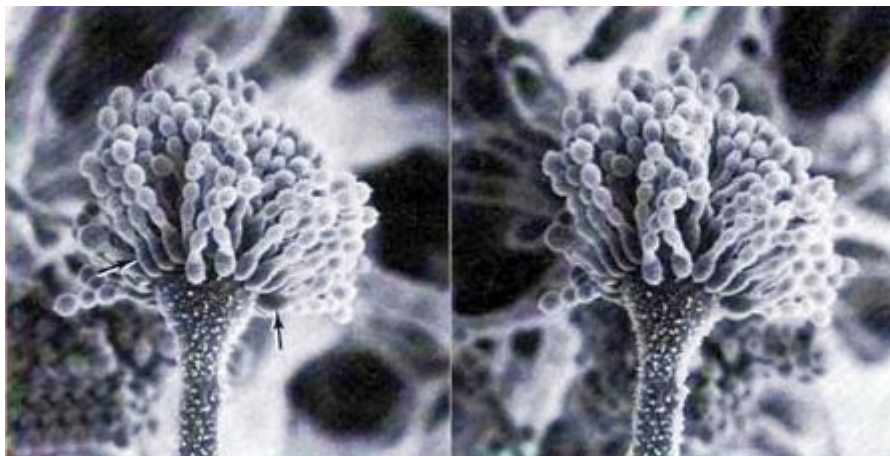
Patogene plijesni proizvode toksične sekundarne produkte metabolizma nazvane mikotoksini, čiji su putovi kontaminacije različiti. Najpovoljniji uvjeti za rast toksikotvornih plijesni i proizvodnju njihovih toksina prisutni su u tropskim predjelima (zbog prikladnih klimatsko-okolišnih uvjeta, temperature i vlage). Stoga, u sveprisutnoj globalizaciji tržišta hranom, posebice žitaricama, nužan je stalan nadzor, odnosno kontrola prilikom uvoza hrane.

## **6. OTKRIĆE MIKOTOKSINA**

Štetni učinci hrane s plijesnima otkriveni su još u Kini, prije najmanje pet tisuća godina. Međutim, nije svaka plijesan otrovna, jer mikotoksine ne proizvode sve plijesni. Zasad se zna da stotinjak vrsta plijesni proizvodi ove otrovne produkte, a poznato je više od tristo vrsta mikotoksina različitih razina štetnosti.

Toksini gljivica počeli su se ozbiljno proučavati tek prije pedesetak godina (Allcroft i Cannaghan, 1963.), nakon što je 1960. godine u Engleskoj zabilježena smrt velikog broja puradi, nakon pojave tzv. "X-bolesti".

Otkriveno je da se u smjesi hrane od kikirikija kojom je purad hranjena nastanila gljivica koja proizvodi kemijski spoj kasnije nazvan aflatoksin, koji je danas najpoznatiji od svih mikotoksina.



Slika 10. Aflatoksin *A. flavus* pod mikroskopom

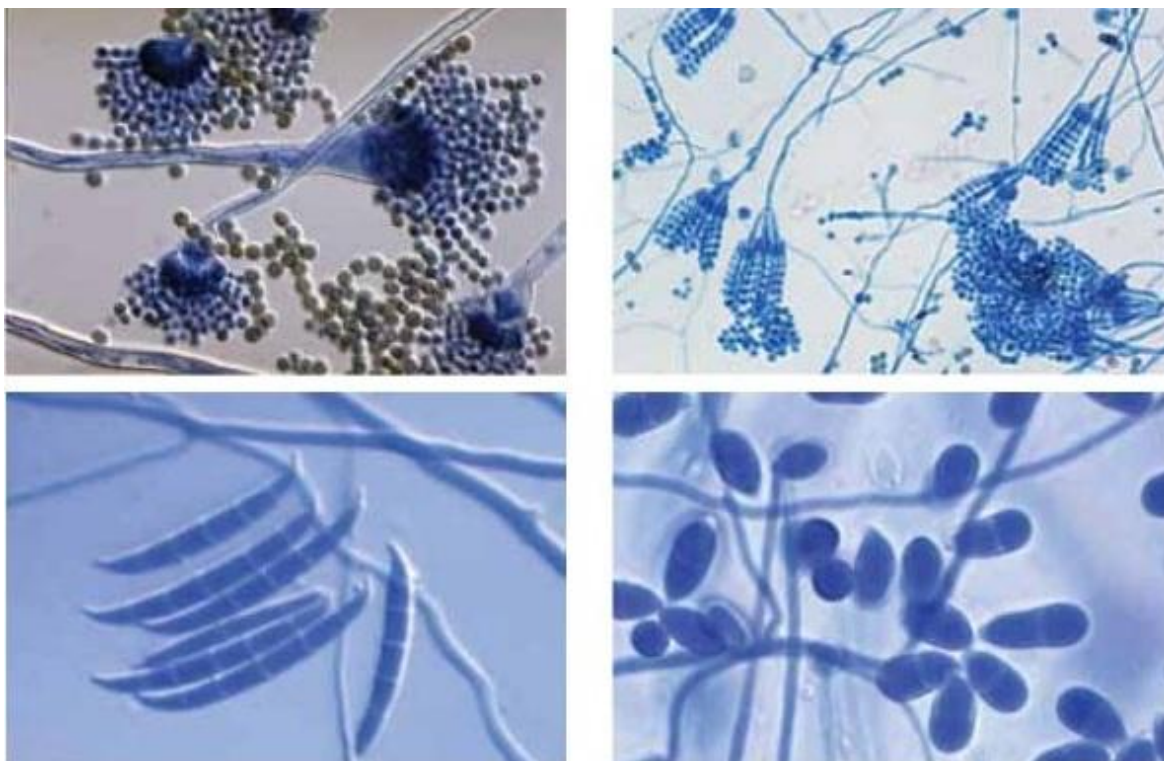
<http://www.ugm.ac.id/id/image/5717-kontaminasi-aflatoksin-masih-mengancam-produk-pangan-indonesia.jpg>

## 6.1 MIKOTOKSINI

Mikotoksini (od grč. riječi *mykes* - gljiva i *toxikon* - otrov) su sekundarni produkti ili poluprodukti nastali u procesu metabolizma plijesni. Otrovnii su i imaju negativne biološke posljedice na ljude i životinje. Mikotoksini pustošili su čovječanstvo stotinama godina, uzrokujući smrti, halucinacije te bol.

Mikotoksini su kemijski spojevi različite strukture, različitoga biološkoga učinka, u pravilu bez boje i okusa. Posjeduju visoku akutnu toksičnost, često povezanu uz maligne bolesti (karcinogenost, mutagenost, imunotoksičnost, hepatotoksičnost, nefrotoksičnost, fenotoksičnost, dermatotoksičnost, hematotoksičnost, teratogenost) te, stoga, mogu izazvati brojne i različite bolesti nazvane mikotoksikoze. Najčešći proizvođači mikotoksina jesu vrste plijesni iz rodova *Penicillium*, *Apergillus* i *Fusarium*.





Slika 11. Mikroskopski snimak plijesni *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Trichotecium*

(<http://veterina.com.hr/?p=18652>)

Plijesni proizvode ove otrove tijekom svojeg boravka u hrani namijenjenoj ljudima ili životinjama. Razmnožavaju se u uvjetima njima najpovoljnije temperature i vlage. Što je veća vlažnost, razvoj plijesni je brži.

U pogledu navedenoga, velika je zabrinutost prisutna zbog karcinogenosti i kronične izloženosti i ljudi i životinja većini mikotoksina. Prema djelovanju na organizam i bolestima koje izazivaju, razlikujemo: nefrotoksine (okratoksini, citrinin i dr.), neurotoksine (patulin, fumonizini i dr.), hepatotoksine (aflatoksini, sterigmatocistin, grizeofulvin i dr.), estrogene (zearalenon), citotoksine (trihoteceni), imunosupresore (okratoksini, trihoteceni, gliotoksin), respiratorne (fumonizini, trihoteceni, stahibotritoksin), fotosenzibilirajuće (sporidezmini) te skupinu povezanu uz odbijanje hrane (deoksinivalenol, diacetoksiscirpenol). Prema procjeni FAO-a, 25 % hrane koja se proizvodi u svijetu kontaminirano je mikotoksinima. Mikotoksini su stabilni i u pravilu otporni na povišenu temperaturu. Njihova biosinteza ovisi o vrsti toksikotvorne plijesni, o klimatskim i okolišnim uvjetima, fizikalno-kemijskim čimbenicima (temperaturi: -5 do

60C, sadržaju vode u namirnici: 13% i više; aw-vrijednosti: iznad 0,65; pH-vrijednosti: 3-9 te koncentraciji plinova u atmosferi i sastavu namirnice). Od dvjestotinjak do sada poznatih mikotoksina (od čega nekoliko desetaka proizvode mikotoksine), najznačajniji po svome toksičkom i karcinogenom učinku jesu: aflatoksini (AFB1 , AFM1 ), okratoksini (OTA), zearalenon (ZEA, F-2), fumonizini (FB1 , FB2 ), trihoteceni (T-2 toksin), patulin (PAT). Poznato je da dvadesetak različitih patogenih plijesni ima sposobnost proizvodnje dvaju ili više različitih mikotoksina. Do nastanka mikotoksikoze dolazi izravnim ili neizravnim stalnim unosom u manjim koncentracijama mikotoksina putem mikotoksinom onečišćene hrane. Sumnja na mikotoksikoze u ljudi je prisutna, ukoliko se neka od bolesti izazvana mikotoksinima javlja u većem broju ljudi. Otrovanja mikotoksinima mikotoksikoze u ljudi i životinja, ovisno o izloženosti hrani onečišćenoj mikotoksikotvornim plijesnima, mogu biti akutna, kao posljedica jednokratnog uzimanja namirnica s visokom do umjerenom koncentracijom mikotoksina (u povijesti češće) i/ ili kronična, nastala konzumiranjem namirnica s umjerenim do niskim koncentracijama mikotoksina tijekom dužega vremenskoga perioda (s mogućim letalnim završetkom). Pojavljuju se u zemljama lošega socijalno-ekonomskoga stanja i lošega poljoprivredno-veterinarskoga standarda, posebice kod uzgoja, transporta i uskladištenja hrane biljnoga i animalnoga podrijetla. Također, onečišćenje zraka aflatoksinom u industrijskim prostorima za proizvodnju hrane u nekim zemljama Europe u više slučajeva bilo je povezivano s malignim bolestima dišnih puteva. Simptomi mikotoksikoza ovise o brojnim čimbenicima: starosnoj dobi i spolu, vrsti i koncentraciji mikotoksina, vremenu izloženosti, farmakodinamičkim osobinama (distribuciji u tkivu, odnosno organu, njegovome metabolizmu, poluvremenu raspada te učinkovitosti organizma u pogledu njihovog uklanjanja). Njihove karakteristike jesu: bolest nije prenosiva; povezana je uz određenu vrstu hrane (krmiva) ili uz promjenu prehrane; liječenje lijekovima i antibioticima je bez rezultata; iako su neki simptomi slični avitaminozi, liječenje vitaminima nije učinkovito; bolesti su sezonske prirode (zbog klimatskih uvjeta koji utječu na rast i razmnožavanje plijesni). U Republici Hrvatskoj prisutnost najjačega prirodnoga karcinogena aflatoksina B1 rijetka je u odnosu na FB1 , OTA i F-2 toksin. Aflatoksin B1 svrstan je, zbog svoga dokazanoga karcinogenoga učinka na životinje i ljude, prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (International Agency for Research on Cancer - IARC), u Skupinu 1. Iako su dokazi o toksičnom i karcinogenom učinku mikotoksina na organizam čovjeka nepotpuni i nepouzdati, ipak na međunarodnoj razini u proizvodnji i distribuciji hrane tim se spojevima pridaje velika pažnja, iz razloga što postoji određena zabrinutost u pogledu

njihove odgovornosti za razne bolesti. Tako su FAO, WHO i UNICEF 1968., između ostaloga, predložili da dopuštena količina aflatoksina B<sub>1</sub> u namirnicama iznosi do 30 µg/kg. U mnogim zemljama također su ozakonjene dopuštene razine mikotoksina u različitim namirnicama (za aflatoksine 5-20 µg/kg namirnice). U cilju sprječavanja moguće kontaminacije hrane toksikotvornim plijesnima i mikotoksinima, potrebno je poznavati preventivne mjere za sprječavanje kontaminacije; fizikalne, kemijske i biološke preventivne mjere, mjere uzgoja, žetve i pohrane krme i žitarica te mjere u proizvodnome procesu, transportu i pri uskladištenju. Najviše dopuštene količine mikotoksina (µg/kg jestivoga dijela) u hrani (namirnicama) u RH propisane su Pravilnikom o najvećoj dopuštenoj količini određenih kontaminanata u hrani.

## 7. AFLATOKSINI

Aflatoksine sintetizira ograničeni broj sojeva plijesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Predstavljaju smjesu kemijski srodnih spojeva među kojima su najvažniji predstavnici aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>. Oznake B i G obilježavaju boju kojom, pri određenoj valnoj duljini UV- svjetla, aflatoksini fluoresciraju (eng. B-Blue, plavo; G-Green, zeleno), a M prema supstratu (eng. milk, mlijeko) iz kojeg su izolirani.

Izvori aflatoksina u hrani: žitarice, kruh, grah, soja, riža, kava, kakao, kikiriki, kokosov orah, pistacije, orasi, mlijeko, jaja, meso, suhomesnati proizvodi, suho voće (smokve, grožđice i dr.), masline, maslinovo ulje, mlijeko, crna i bijela vina, orasi i dr.

S obzirom da su žitarice čest izvor AFB<sub>1</sub> posljedično su onečišćeni i gotovi proizvodi na bazi žitarica. Međutim, onečišćenje aflatoksinima ponekad je i neizbježno, što nameće potrebu za uvođenjem pogodnih postupaka prerade hrane i hrane za životinje kojima bi se mogao inaktivirati toksin. Kukuruz se kao žitarica uzgaja u najvećem dijelu svijeta i učestalo koristi u prehrani ljudi i životinja te predstavlja poseban problem. Zbog njegove nutritivne vrijednosti, temeljem dopuštenih vrijednosti, većih od najvećih dopuštenih količina (NDK) aflatoksina u hrani za životinje u odnosu na hranu, veliki udio svjetske proizvodnje kukuruza namijenjen je upravo hranidbi životinja. Imajući u vidu činjenicu da je u dijelovima svijeta u kojima vlada tropska ili suptropska klima rizik od onečišćenja AFB<sub>1</sub> općenito prepoznat kao visok, dominantan je nadzor nad AFB<sub>1</sub> u krmivima kao što

su kukuruz, pogače kikirikija i suncokreta, ekstrahirani kopar, gluten podrijetlom iz kukuruza, rižine posije, sjeme pamuka, ljuske palme i sojino zrnje, uvozenim iz trećih zemalja, za koje je utvrđeno da su glavni izvori AFB1. U nekim zemljama svijeta utvrđeno je izrazito onečišćenje lokalno uzgojenoga kukuruza, korištenog u krmivima u hranidbi životinja sa farmi za proizvodnju hrane, sa značajno povišenim razinama AFB1 u odnosu na propisane.

Tri su najvažnija uvjeta koja pogoduju rastu gljivica i mogu pojačati gljivičnu invaziju čineći unutrašnjost sjemenke (žitarica ili različitih orašastih plodova) lakše dostupnom:

1. Vlažnost (najoptimalnija je relativna vlažnost od 70 % i sadržaj vlage u zrnu između 14-24 %);
2. Optimalna temperatura za rast gljivice (najčešće od 25°C-42°C);
3. Oštećenje omotača sjemenke (može biti izazvano insektima, parazitima, sušom, mehaničkom žetvom i sušenjem na vrelom zraku).



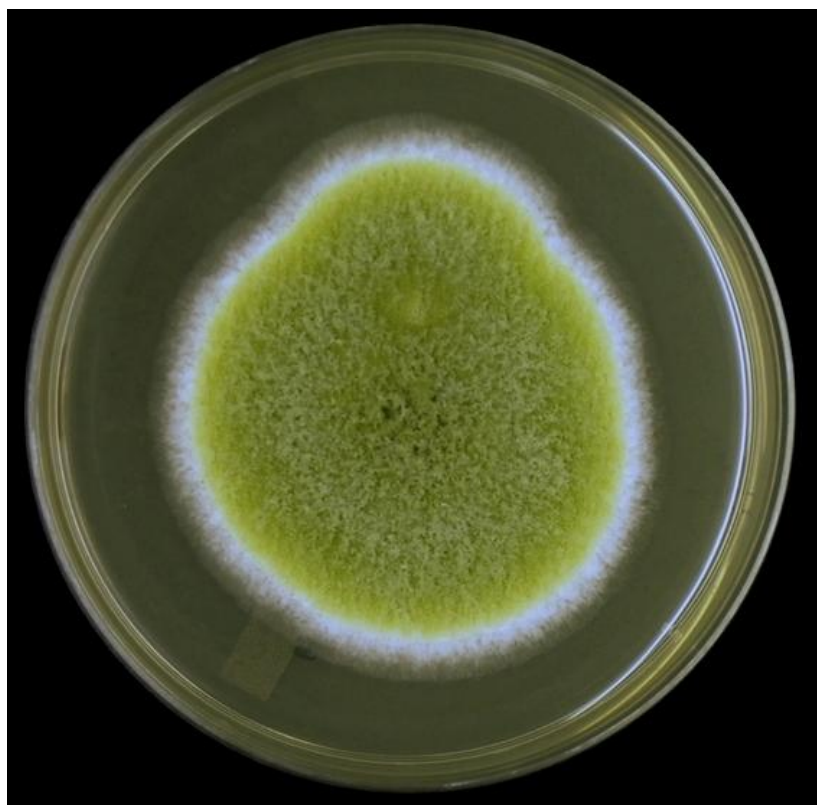
Slika 12. Kukuruz kontaminiran jednim od kancerogenih aflatoksina

(<http://www.hrvatska-rijec.com/wp-content/uploads/2012/12/kukuruz-zarazen.jpg>)

## 8. ASPERGILLUS FLAVUS

*Aspergillus flavus* je patogena gljiva koja izaziva puno zaraza na raznim usjevima diljem svijeta. Pod odgovarajućim uvjetima temperature i vlažnosti, na pogodnim supstratima proizvode aflatoksine. Pošto je *Aspergillus flavus* aerobna gljivica, razvija se i proizvodi toksine samo na površini namirnice i djelovima izloženim zraku, a njegovi toksini mogu prodrijeti i do nekoliko centimetara u dubinu namirnice. Najčešće sintetizira aflatoksine B1, B2, G1 i G2. Aflatoksini M1 i M2 su produkti metabolizma aflatoksina B1 i B2 i nastaju kada sisavci konzumiraju hranu kontaminiranu ovim mikotoksinima.

Najpoznatija je njegova kolonija na žitaricama i mahunarkama. Do zaraze može doći prije žetve, ali biljka domaćin često ne pokazuje simptome sve do skladištenja.

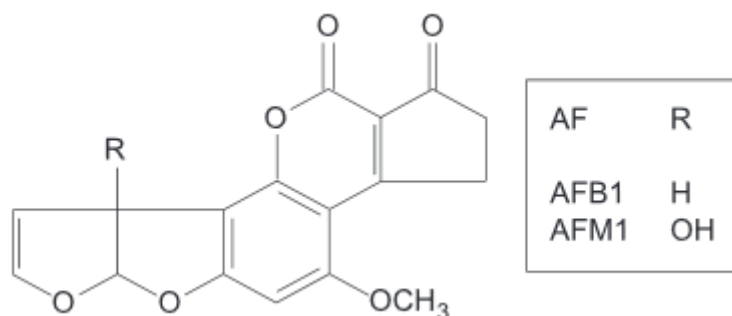


Slika 13. Prikaz plijesni *A. flavus* uzgojene na hranjivoj podlozi

([http://www.enciklopedija.hr/Ilustracije/HE4\\_C066.jpg](http://www.enciklopedija.hr/Ilustracije/HE4_C066.jpg))

## 8.1 AFLATOKSIN B1 (AFB1)

To je toksikološki najvažniji aflatoksin (najvažniji karcinogen) koji se nalazi u namirnicama biljnog i životinjskog podrijetla. Nalazimo ga u poljoprivrednim proizvodima, žitaricama, uljaricama, kavi, riži, kikirikiju i pistacijama.



Slika 14. Strukturna formula aflatoksina B1

(Šarkanj i sur., (2010) : Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani)

AFB1 u organizmu sisavaca metabolički se transformira u aktivni oblik AFB1, koji je biološki aktivniji od ostalih aflatoksina. Na osnovi brojnih epidemioloških istraživanja provedenih u zemljama gdje je visoka incidencija primarnoga karcinoma jetre, dokazano je da je AFB1 sigurni karcinom za ljude. Također je dokazano da postoji dobra korelacija između koncentracije AFB1 u hrani i učestalosti nalaza metabolita DNA adukata AFB1 u mokraći. Može izazvati zloćudni tumor jetre u ljudi i životinja, a izaziva pomutnje na bubrezima, dušniku i potkožnome tkivu. Njegov dugotrajan unos hranom u organizam predstavlja rizični čimbenik u razvoju primarnoga hepatocelularnoga karcinoma. Zbog njegovoga mogućega toksičnoga učinka u

čovjeka, po preporuci IARC, svrstan je u skupinu 1 spojeva, s dokazanim karcinogenim učinkom.

Podnosi izuzetno visoke temperature (do 260 °C) te se, stoga, ne može ukloniti termičkom obradom namirnice.

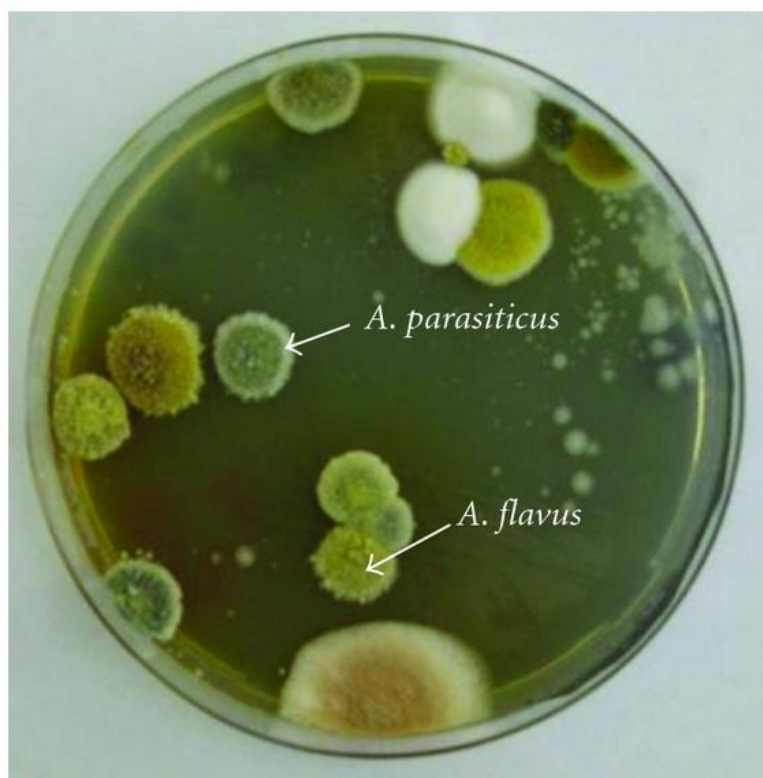
Primjenom fizičkih, kemijskih i bioloških postupaka; sušenjem žitarica, kemijskim antifungalnim agensima (propionska, mravlja, octena kiselina), zračenjem, dehidriranim amonijakom pri povišenoj temperaturi i tlaku, jakim kiselinama i lužinama, oksidirajućim agensima (ozon i vodikov peroksid), količina mikotoksina u hrani može se smanjiti.

## **8.2 AFLATOKSIN M1 (AFM1)**

Aflatoksin M1 je hidroksilirani metabolit aflatoksina B1, poznat kao hepatokarcinogeni spoj. Sintetiziraju ga plijesni iz roda *Aspergillus* (*A. flavus* i *A. parasiticus*).

Nalazimo ga u mlijeku i mliječnim proizvodima. Procijenjeno je da je karcinogen za ljude. U organizam ljudi može se unijeti preko namirnica (uvezenih mliječnih proizvoda), a u životinje preko krme. U prehrambeni lanac može ući izravno ili neizravno, nakon metaboličke transformacije AFB1 u AFM1 u mliječnim žlijezdama preživača. Osjetljivost na mogući karcinogeni i toksički efekt AFM1 dokazana je u pastrva i štakora. Budući da je AFM1 dihidroderivat AFB1, koji se smatra najtoksičnijim mikotoksinom iz skupine AF, čijim dugotrajnim unosom u organizam može doći do razvoja hepatocelularnoga karcinoma, IARC ga je svrstala u Skupinu 2 B toksina, s mogućim karcinogenim učinkom.





Slika 15. *A.flavus* i *A.parasiticus*

(<http://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2012/675361.fig.001.jpg>)

Dopuštena količina AFM1 u sirovome mlijeku, prema pravilniku, iznosi 0,05  $\mu\text{g/kg}$ . U mnogim je zemljama ozakonjena koncentracija AFM1 do razine od 50  $\mu\text{g/kg}$ .

AFM1 se ne može u potpunosti ukloniti iz mliječnih proizvoda, ali se zato njegova razina u mliječnim proizvodima može smanjiti postupcima prerade: sušenjem, pasterizacijom i sterilizacijom.

## 9. ZAKLJUČAK

Mikotoksini u malim količinama predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi i životinja. Ljudi i životinje unose ih hranom, udisanjem ili preko kože. Procjenjuje se da 25 % biljaka godišnje koje se koriste za hranu ljudi i životinja sadrži manje ili veće količine mikotoksina. Današnje precizne analitičke metode, toksikološka i laboratorijska ispitivanja mikotoksina te ciljano praćenje unosa pojedinih mikotoksina, samo potvrđuju potencijalni rizik za zdravlje. Nedovoljan broj epidemioloških ispitivanja u nas o povezivanju mikotoksina s posljedicama po zdravlje ljudi i životinja kao i o djelovanju raznih mikotoksina, ostavlja otvorena brojna pitanja. Unos mikotoksina ispod dozvoljene dnevne količine ne znači i smanjenu opasnost po zdravlje čovjeka i životinja, posebno i zbog drugih štetnih tvari koje se mogu naći uz mikotoksine.

U cilju spriječavanja pojave aflatoksina najvažnija je preventiva, kao npr. ne dozvoliti da krave pojedju zagađeno krmivo, jer na taj način dolazi do kontaminacije mlijeka.

## 10. PREGLED LITERATURE

### Knjiga:

1. Duraković S., Duraković L. (2003.): Mikologija u biotehnologiji. Kugler d.o.o., Zagreb.
2. Duraković S., Duraković L. (2003.): Specijalna mikrobiologija. Durieux d.o.o., Zagreb.
3. Radman LJ. (1978.): Fitopatologija. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Sarajevu.
4. Šarkanj i sur., (2010.): Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani.

### Jedinice sa interneta:

1. Wikipedia: Aspergillus. <https://en.wikipedia.org/wiki/Aspergillus>. 28.02.2016.

## 11. SAŽETAK

Aflatoksine sintetizira ograničeni broj sojeva plijesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Predstavljaju smjesu kemijski srodnih spojeva među kojima su najvažniji predstavnici aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>. Oznake B i G obilježavaju boju kojom, pri određenoj valnoj duljini UV- svjetla, aflatoksini fluoresciraju (eng. B-Blue, plavo; G-Green, zeleno), a M prema supstratu (eng. milk, mlijeko) iz kojeg su izolirani.

Izvori aflatoksina u hrani: žitarice, kruh, grah, soja, riža, kava, kakao, kikiriki, kokosov orah, pistacije, orasi, mlijeko, jaja, meso, suhomesnati proizvodi, suho voće (smokve, grožđice i dr.), masline, maslinovo ulje, mlijeko, crna i bijela vina, orasi i dr.

Ključne riječi: aflatoksini, *Aspergillus*, sintetiziraju, aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>.

## 12. SUMMARY

Aflatoxines synthesized limited number of mold from *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* family. They represent compound of chemically related compounds, in which are the most important representatives aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>.

Marks B and G mark a color (B- blue and G- green) which, at a certain wavelight UV light make aflatoxins fluroescent, and it depends about substrate from which they were isolated.

Sources of aflatoxins in food are wheat, bread, bean, coffe, rice, cocoa, peaunat, coconut, dried meat products, dried fruits (figs, raisins, etc. ), olives, olive oil, milk, red and white wines, etc.

Key words: aflatoxins, *Aspergillus*, synthesized, aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub>.

### 13. POPIS DODATAKA

#### 13.1 POPIS SLIKA

Slika 1. Mikroorganizmi pod mikroskopom; preuzeto sa

(<http://1.bp.blogspot.com/p7KL5VLNYMY/TqXACBWPwBI/AAAAAAAAAjc/GjhT5lix xDU/s320/moneri.jpg>)

Slika 2. Mikroskopski prikaz mikoze; preuzeto sa

(<http://www.fitmedic.rs/images/mikoze.jpg>)

Slika 3. *Pseudopeziza medicaginis*; preuzeto sa

(<http://www7.inra.fr/hyp3/images/6034581.jpg>)

Slika 4. Razlika između saprofitskih i parazitskih mikroorganizama; preuzeto sa

(<http://cramster-image.s3.amazonaws.com/definitions/9780071433877-f0126-01.jpg>)

Slika 5. Septirane i ne-septirane hife; preuzeto sa

([http://web.unair.ac.id/admin/file/f\\_13838\\_hifa.png](http://web.unair.ac.id/admin/file/f_13838_hifa.png))

Slika 6. Smještaj micelija i način ishrane kod ektoparazita; preuzeto sa

(Karolina Vrandečić, (2010.), Fitopatologija 1)

Slika 7. Smještaj i razvoj micelija kod intracelularnih parazita; preuzeto sa

(Karolina Vrandečić, (2010.), Fitopatologija 1)

Slika 8. Smještaj i razvoj micelija kod intercelularnih parazita; preuzeto sa

(Karolina Vrandečić, (2010.), Fitopatologija 1)

Slika 9. Mikroskopski prikaz plijesni *A.flavus*; preuzeto sa

([http://www.hah.hr/arhiva/index\\_potrosacki.php?id=900](http://www.hah.hr/arhiva/index_potrosacki.php?id=900))

Slika 10. Aflatoksin *A.flavus* pod mikroskopom; preuzeto sa

(<http://www.ugm.ac.id/id/image/5717-kontaminasi-aflatoksin-masih-mengancam-produk-pangan-indonesia.jpg>)

Slika 11. Mikroskopski snimak plijesni *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Trichotecium*; preuzeto sa (<http://veterina.com.hr/?p=18652>)

Slika 12. Kukuruz kontaminiran jednim od kancerogenih aflatoksina; preuzeto sa

(<http://www.hrvatska-rijec.com/wp-content/uploads/2012/12/kukuruz-zarazen.jpg>)

Slika 13. Prikaz plijesni *A.flavus* uzgojene na hranjivoj podlozi; preuzeto sa

([http://www.enciklopedija.hr/Ilustracije/HE4\\_C066.jpg](http://www.enciklopedija.hr/Ilustracije/HE4_C066.jpg))

Slika 14. Strukturna formula aflatoksina B1; preuzeto sa

(Šarkanj i sur., (2010) : Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani)

Slika 15. *A.flavus* i *A.parasiticus*; preuzeto sa

(<http://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2012/675361.fig.001.jpg>)

## **13.2 POPIS TABLICA**

Tablica 1. Pregled žitarica u kojima su dokazani mikotoksini.

Tablica 2. Mogući putovi kontaminacije namirnica i krme mikotoksinima.



## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište J.J. Strossmayera

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Završni rad

## AFLATOKSINI KAO UZROČNICI KVARENJA POLJOPRIVREDNIH PROIZVODA AFLATOXINS AS A SPOILAGE OF AGRICULTURAL PRODUCTS

Josipa Jantoš

### SAŽETAK

Aflatoksine sintetizira ograničeni broj sojeva plijesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Predstavljaju smjesu kemijski srodnih spojeva među kojima su najvažniji predstavnici aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>. Oznake B i G obilježavaju boju kojom, pri određenoj valnoj duljini UV- svjetla, aflatoksini fluoresciraju (eng. B-Blue, plavo; G-Green, zeleno), a M prema supstratu (eng. milk, mlijeko) iz kojeg su izolirani. Izvori aflatoksina u hrani: žitarice, kruh, grah, soja, riža, kava, kakao, kikiriki, kokosov orah, pistacije, orasi, mlijeko, jaja, meso, suhomesnati proizvodi, suho voće (smokve, grožđice i dr.), masline, maslinovo ulje, mlijeko, crna i bijela vina, orasi i dr.

Ključne riječi: aflatoksini, *Aspergillus*, sintetiziraju, aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>.

### SUMMARY

Aflatoxines synthesized limited number of mold from *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* family. They represent compound of chemically related compounds, in which are the most important representatives aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>. Sources of aflatoxins in food are wheat, bread, bean, coffe, rice, cocoa, peaunat, coconut, dried meat products, dried fruits (figs, raisins, etc. ), olives, olive oil, milk, red and white wines, etc.

Key words: aflatoxins, *Aspergillus*, synthesized, aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub>.

Datum obrane: